

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1902-1903. — N° 47.

DES CAUSES D'ERREURS
DANS
L'EXAMEN CYTOLOGIQUE
DES
Liquides Pathologiques des Séreuses

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 8 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre-Enos-Lucien CHEVRANT

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

né à Gières (Isère), le 9 Septembre 1879



LYON

Imprimerie WALTENER & C^{ie}, Successeurs de Mougin-Rusand
3, Rue Stella, 3

1902

DES CAUSES D'ERREURS
DANS
L' EXAMEN CYTOLOGIQUE
DES
Liquides Pathologiques des Séreuses

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1902-1903. — N° 47.

DES CAUSES D'ERREURS
DANS
L'EXAMEN CYTOLOGIQUE

DES
Liquides Pathologiques des Séreuses

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 8 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre-Enos-Lucien CHEVRANT

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE DE LYON

né à Gières (Isère), le 9 Septembre 1879



LYON

Imprimerie WALTENER & C^{ie}, Successeurs de Mougin-Rusand

3, Rue Stella, 3

1902



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET.	DOYEN.
LACASSAGNE	ASSESSEUR.
CROLAS.	QUESTEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU

PROFESSEURS

Cliniques médicales	{	MM. LÉPINE.
Cliniques chirurgicales		BONDET.
Clinique obstétricale et Accouchements	{	BARD.
Clinique ophtalmologique.		PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	{	JABOULAY.
Clinique des maladies mentales		FOCHIER.
Clinique des maladies des enfants	{	GAYET.
Physique médicale		GAILLETON.
Chimie médicale et pharmaceutique	{	PIERRET.
Chimie organique et Toxicologie.		WEILL.
Matière médicale et Botanique.	{	MONOYER.
Parasitologie		HUGOUNENQ.
Anatomie	{	CAZENEUVE.
Anatomie générale et Histologie		FLORENCE.
Physiologie	{	LORTET.
Pathologie interne		TESTUT.
Pathologie externe	{	RENAUT.
Pathologie et Thérapeutique générales.		MORAT.
Anatomie pathologique	{	TEISSIER.
Médecine opératoire.		AUGAGNEUR.
Médecine expérimentale et comparée	{	MAYET.
Médecine légale		TRIPPIER.
Hygiène	{	POLLOSSON (M.)
Thérapeutique		ARLOING.
Pharmacologie	{	LACASSAGNE.
		COURMONT (J.).
	{	SOULIER.
		CROLAS.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON (A.), agrégé
Maladie des voies urinaires.	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Physiologie	DOYON, —
Accouchements.	FABRE, —
Botanique.	BEAUVISAGE, —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX.	SIRAUD.	BÉRARD.	VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND	CHATIN.	CAUSSE (Ch.).
VALLAS			

M. BEAUDUN, Secrétaire

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. BONDET, Président ; M. PIC, Assesseur ;
MM. CHATIN et TIXIER, Agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A M. LE PROFESSEUR BONDET

A M. LE DOCTEUR BARJON

Médecin des Hôpitaux



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

Entrevue en Pologne, étudiée et précisée à Paris, la cytologie s'est en quelques mois répandue dans tous les laboratoires médicaux d'Europe. La méthode était séduisante par sa simplicité, sa rapidité et les promesses brillantes attachées à son emploi par ses promoteurs.

D'ardents défenseurs faisaient l'éloge du cytodiagnostic et, passant de la plèvre à la cavité sous-arachnoïdienne, au péritoine, aux synoviales articulaires, à la vaginale, au péricarde, s'efforçaient d'y voir la cytologie obéir partout aux mêmes lois, rendre partout d'appréciables services au diagnostic.

Dans un autre camp s'entassaient les observations contradictoires; bien des chercheurs étaient déçus: à sa naissance, la cytologie avait reçu le don de trancher la question de la nature des épanchements et trop de fois sa réponse avait été trompeuse.

Grâce à de nombreux travaux personnels où les résultats du cytodiagnostic étaient rigoureusement contrôlés par la clinique et l'expérimentation, M. le D^r BARJON, médecin des hôpitaux de Lyon, et M. le D^r CADE, chef de clinique médicale de M. le Professeur BONDET, ont pu modifier certains côtés de la question, préciser ou

découvrir d'autres points. Leur collection de documents était assez riche pour permettre d'y puiser une opinion rationnelle sur la valeur du cytodagnostic et d'expliquer beaucoup de divergences d'appréciation, de contradictions et d'erreurs.

M. BARJON a bien voulu nous confier le soin de rechercher les causes d'erreurs dans l'examen cytologique des liquides pathologiques des séreuses.

Ces causes d'erreurs, nous les classerons en quatre catégories dont chacune fera l'objet d'un chapitre : dans la première catégorie, ces erreurs relèvent de la technique, de l'examen des préparations dans la seconde, de leur interprétation dans la troisième, dans la dernière enfin des variations des formules au cours de l'évolution de la maladie.

Auprès de M. le D^r BARJON nous avons toujours trouvé accueil charmant, documentation précieuse, conseils éclairés : le meilleur de cette étude lui est dû. Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.

La présidence de notre thèse par M. le Professeur BONDET est pour nous une joie réelle et un grand honneur. Sa bienveillance et le charme de son enseignement lui ont attaché l'élève d'hier ; le médecin de demain n'oubliera jamais la parole du Maître.

MM. les médecins majors NICLOT et GEORGES, répétiteurs à l'Ecole du Service de Santé militaire, ont guidé et facilité nos recherches avec une amabilité dont nous garderons toujours un souvenir respectueux et ému.

Nous voudrions aussi remercier M. le Professeur agrégé CHATIN d'avoir si gracieusement accepté de faire partie de notre Jury.

CHAPITRE PREMIER

Technique

Ponction. — La ponction, opération initiale d'un diagnostic cytologique, peut constituer une source d'erreurs ou de déconvenues, assez facilement évitables d'ailleurs.

Dans quelque organe qu'elle soit pratiquée, elle peut intéresser un vaisseau sanguin, provoquer une certaine hémorrhagie dans l'épanchement, partant amener dans la formule des globules rouges ou en augmenter le nombre ; mais la valeur diagnostique des hématies en cytologie est nulle : l'accident demeure sans conséquences.

Dans la recherche d'un liquide pleural, l'aiguille peut ramener un liquide de tout autre origine ; pénètre-t-elle dans le parenchyme pulmonaire, on obtient dans le corps de la seringue un sérosité sanglante, spumeuse, dont les bulles d'air décèlent immédiatement la nature. L'aiguille s'égare-t-elle dans un kyste hydatique, pulmonaire ou hépatique — car ce dernier, s'il se développe

à la face convexe du foie, peut refouler le diaphragme, pénétrer dans le thorax et en imposer pour une pleurésie — donnera à l'examen un liquide limpide comme de l'eau de roche, contenant, visibles au microscope, des crochets caractéristiques.

Façon de recueillir le liquide. — Cette ponction exploratrice se pratique avec différents modèles de seringues, se rapprochant toutes plus ou moins du type créé par Pravaz. Au laboratoire de la clinique du professeur Bondet, MM. Barjon et Cade emploient de préférence la seringue de Roux, de 30 cc. de contenance. Pour recueillir une égale quantité de liquide, on peut fort bien se passer d'un instrument d'aussi grand modèle ; il suffit, la ponction étant faite avec une seringue de 5 cc. par exemple, d'interposer entre son aiguille et son corps un ajutage de caoutchouc de quelques centimètres : on remplit la seringue, on pince le caoutchouc intermédiaire, on verse le liquide dans un récipient préparé à cet effet ; on ajuste de nouveau le corps de la seringue au caoutchouc, nouvelle prise de 5 cc., etc.

Quantité à recueillir. — Il est préférable en effet d'obtenir en une ponction une quantité de liquide assez grande (30 cc. environ) pour permettre d'appliquer simultanément ces trois moyens de contrôle presque journellement employés par MM. Barjon et Cade : l'examen cytologique, le sérodiagnostic tuberculeux et l'inoculation au cobaye. Il est évident qu'une observation consignait les résultats donnés par ces trois méthodes de contrôle appliquées au liquide d'une même prise aura plus de rigueur scientifique. Cette remarque paraît

surtout fondée au point de vue de l'inoculation au cobaye : la virulence du liquide épanché ne pourrait-elle pas passer par des phases d'intensité variable ? La chose certes serait difficile à démontrer, car, dans la série d'inoculations qu'il faudrait pratiquer, trop de facteurs étrangers à la virulence du produit d'inoculation interviendraient pour fausser les résultats, mais l'hypothèse semble rationnelle.

Or l'inoculation, de si précieuse valeur diagnostique lorsqu'elle est positive, exige une quantité notable de liquide pathologique. Dieulafoy fait remarquer que l'inoculation au cobaye d'un liquide manifestement tuberculeux n'est pas toujours positive ; qu'une dose assez forte (20 cc.) inoculée dans le péritoine augmente les chances de réussite. Les résultats négatifs, explique-t-il, se comprennent ainsi : en un liquide peu virulent, les bacilles peuvent être répartis à un tel degré de dilution que, dans le péritoine de l'animal, ils sont rapidement annihilés et détruits. Le Damany démontre encore mieux la valeur quantitative du liquide inoculé : injectant en plusieurs fois jusqu'à 300 cc. d'un même liquide, il obtient une proportion d'inoculations positives notablement plus forte que dans les expériences où sont utilisées des doses moins élevées.

A l'inoculation intrapéritonéale est préférée, dans le laboratoire de la clinique du professeur Bondet, l'inoculation dans le tissu cellulaire sous-cutané de la cuisse ; dans le péritoine en effet, un liquide septique peut déterminer la mort sans traces de tuberculose ; un liquide peu virulent d'autre part permet quelquefois au cobaye de vivre plusieurs mois, d'augmenter de poids même et

rien n'indique à l'expérimentateur qu'en cet organisme le bacille de Koch développe et multiplie ses lésions. L'inoculation à la cuisse au contraire se révèle positive de bonne heure par le gonflement, l'induration ou l'ulcération des ganglions fémoraux.

Etant donnée l'importance de l'inoculation comme moyen de contrôle des recherches cytologiques, il est à peine besoin d'insister sur l'asepsie nécessaire à la seringue et au récipient du liquide d'épanchement. Ce récipient (tube à essai, par exemple), sera flambé ou stérilisé au four Pasteur ou à l'autoclave.

Date de l'examen. — Le liquide recueilli, il sera bon de ne pas attendre trop longtemps pour procéder à l'examen cytologique. Si nous avons affaire à un épanchement non fibrineux comme le liquide céphalo-rachidien, le contenu de la plupart des hydrocèles, celui de certaines ascites (cirrhoses), un intervalle de 24 ou 48 heures entre la ponction et la confection des préparations microscopiques ne nuit pas trop à la morphologie des éléments cellulaires ; mais, dans les épanchements fibrineux, les cellules s'altèrent sensiblement en 24 heures, surtout si le liquide n'a pas été recueilli très aseptiquement ; de plus la coagulation qui s'y produit nécessite la défibrination, opération dont nous ferons plus loin l'analyse et montrerons les inconvénients.

Certaines préparations même — et nous voulons parler des préparations humides que nous décrirons tout à l'heure — ne se conservent pas indéfiniment et peuvent induire le cytologiste en erreur, lorsqu'elles sont vieilles et altérées.

Défibrination. — Nous venons de qualifier d'inconvénient la nécessité de défibriner : telle n'est pas l'opinion de MM. Vidal et Ravaut qui procèdent de la façon suivante : ils additionnent le liquide de perles de verre et l'agitent fortement ; le temps nécessaire pour une défibrination complète — qui se traduit par la formation d'un caillot unique ou de plusieurs masses fibrineuses — varie de 10 minutes à une ou plusieurs heures. Si le liquide contient déjà un coagulum formé, les perles de verre prennent la place des éléments cellulaires inclus dans le coagulum et ceux-ci sont mis en liberté.

Cette méthode de la défibrination, MM. Barjon et Cade l'ont vite abandonnée. Elle allonge le manuel opératoire et, reproche plus grave, diminue le pourcentage des polynucléaires ; MM. Widal et Ravaut le reconnaissent eux-mêmes. Pour Sabrazès la différence ne dépasse guère 3 à 4 pour 100 ; mais ce chiffre est au-dessous de la réalité. Nous citerons à l'appui de cette assertion deux observations de MM. Barjon et Cade. Dans la première, trois examens successifs ont été pratiqués chez un même malade à un faible intervalle ; l'examen intermédiaire fait après défibrination ne montre aucun polynucléaire, tandis que les deux autres, effectués par centrifugation immédiate donnent 22,5 pour 100 et 30 pour 100 de polynucléaires. Dans la seconde, les constatations sont analogues ; de plus à l'occasion d'une quatrième ponction, deux portions sont faites du liquide ; l'une centrifugée immédiatement donne 7 o/o de polynucléaires ; l'autre, après attente de 24 heures et défibrination, n'en montre aucun :

OBSERVATION I

G..., Saint-Augustin, n° 30. Pleurésie gauche fébrile, datant du 1^{er} avril 1902.

1^{re} ponction le 18 avril. — Examen immédiat (ponction exploratrice) sans défibrination :

Lymphocytes.....	67 °/o
Polynucléaires.....	22,5 °/o
Mononucléaires.....	6,5 °/o
Endothéliales	4 °/o

2^e ponction le 20 avril. — Thoracentèse. Examen après 24 heures. Défibrination avec perles de verre.

Lymphocytes.....	86 °/o
Polynucléaires.....	0 °/o
Mononucléaires.....	6 °/o
Endothéliales	8 °/o

3^e ponction le 24 avril. — Examen immédiat sans défibrination.

Lymphocytes.....	56 °/o
Polynucléaires.....	30 °/o
Mononucléaires.....	4 °/o
Endothéliales	10 °/o

Un cobaye inoculé avec le liquide de la 1^{re} ponction a succombé en un mois. On trouve une large ulcération à la base de la cuisse inoculée, avec un gros ganglion caséeux. La rate est infiltrée de tubercules. Rien au foie. Poumons congestionnés sans tubercules.

OBSERVATION II

B..., (Joseph), Saint-Augustin, n° 4. Pleurésie gauche à début aigu. Sommet gauche : son +, vibrations. Respiration.

1^{re} ponction exploratrice le 24 mai 1902. — Deux jours après l'autre. Examen immédiat :

Beaucoup de globules rouges.

Lymphocytes	40 °/o
Petits mononucléaires	35 °/o
Polynucléaires	20 °/o
Grands mononucléaires	3 °/o
Endothéliales	2 °/o

2^e ponction. — Thoracentèse le 28 mai. Examen après 24 heures. Défibrination avec perles de verre :

Lymphocytes	96 °/o
Petits mononucléaires	4 °/o
Polynucléaires	3 °/o

3^e ponction. — Thoracentèse le 7 juin. Examen immédiat.

Lymphocytes	65 °/o
Polynucléaires	23 °/o
Endothéliales	12 °/o

Inoculation au cobaye : n'a pas encore donné de résultats,

4^e ponction. — Thoracentèse le 19 juin.

Examen immédiat :

Lymphocytes	72 °/o
Grands mononucléaires	21 °/o
Polynucléaires	7 °/o

Examen après 24 heures. — Défibrination avec perles de verre :

Lymphocytes	94 °/o
Grands mononucléaires	6 °/o
Polynucléaires	0 °/o

Autre défectuosité : il reste toujours dans le liquide nombre de flocons fibrineux que la centrifugation mêle

aux éléments cytologiques : on n'obtient qu'un culot sale et rempli de grumeaux.

MM. Barjon et Code tentèrent de prévenir la coagulation par de l'extrait de têtes de sangsues ; mais, pour obtenir l'effet désiré, il fallait une trop grande quantité de cet agent qui, d'autre part, pouvait altérer les éléments cellulaires. Enfin, il était encore plus simple de s'arrêter — et c'est là leur méthode actuelle — à une centrifugation rapide (3.000 tours à la minute environ) pratiqué immédiatement après la ponction, avant toute coagulation.

Centrifugation. — C'est dans cette manœuvre de la centrifugation que certains auteurs ont puisé un argument contre la valeur du cytodagnostic. Les différents éléments cellulaires, disent-ils, n'auraient pas la même densité, le même poids spécifique, bref n'obéiraient pas tous de même façon et simultanément à la force centrifuge : aussi, selon que la vitesse ou la durée de centrifugation ont été plus ou moins grandes, la composition du culot sera plus ou moins riche en tel ou tel genre d'éléments figurés.

A cette objection, qui semble au premier abord reposer sur une hypothèse soutenable, nous répondrons en citant l'expérience de M. Barjon. Avec le liquide d'une même prise (observation 158 de la collection Barjon et Cade), se servant d'un centrifugeur électrique à vitesse variable de 3.000 à 6.000 tours à la minute, M. Barjon a fait deux séries de préparations : la première série provenait d'une portion de liquide centrifugée 2 minutes ; la seconde de l'autre portion centrifugée

4 minutes. Entre les formules cytologiques déduites de l'examen de chacune de ces séries on ne relevait pas de différences ; chacune donnait :

Cellules endothéliales.....	59 °/o
Lymphocytes.....	38 °/o
Polynucléaires.....	2 °/o
Eosinophiles.....	1 °/o

Cependant une centrifugation insuffisamment prolongée peut être une cause d'appréciation inexacte du contenu cellulaire, d'où appauvrissement de l'épanchement.

C'est la pauvreté, réelle souvent, des épanchements en éléments figurés qui fait préconiser l'usage, dans le centrifugeur, de tubes à extrémité effilée : cette disposition facilite beaucoup et la vue et la prise d'un culot peu considérable.

Façon de recueillir le culot. — Recueillir les éléments cellulaires rassemblés au fond du tube par centrifugation n'est pas, en effet, opération toujours exempte de difficultés. Voici le *modus faciendi* adopté par M. Barjon : la centrifugation terminée, les éléments figurés tassés en culot au fond du tube, on décante en retournant ce tube de 180° ; le tube est remis dans sa position primitive : le liquide qui mouille ses parois redescend et constitue au-dessus du culot une nappe encore trop importante. Pour l'épuiser M. Barjon se sert d'un tube de verre dont une extrémité est étirée de façon à constituer un tube capillaire extrêmement fin. Par des phénomènes de capillarité, cette pointe absorbe une partie de la nappe liquide ; on la retire, on jette le liquide absorbé

en soufflant par la grosse extrémité de cette sorte de pipette ; on recommence jusqu'à ce qu'il ne reste qu'une quantité de liquide suffisante pour diluer le culot tout en lui laissant la consistance d'une goutte de sang.

Lorsque ce culot est peu abondant, il faut gratter le fond du tube pour y puiser de quoi effectuer les préparations.

Étalement. — Il n'est pas indifférent d'étaler les éléments du culot de façon quelconque. MM. Vidal et Ravaut préconisent le manuel opératoire suivant : Prendre le liquide à examiner avec une pipette, en déposer une gouttelette sur la lame et l'étaler avec un fil de platine ou le bout d'une pipette fermée en cercles concentriques de plus en plus grands.

Ce mode d'étalement n'est utilisé par MM. Barjon et Cade que dans le cas d'une ponction peu riche en éléments cellulaires, d'un produit de centrifugation trop peu consistant ; à moins de telle circonstance, M. Barjon opère l'étalement des éléments à examiner avec le bord d'une lamelle rodée : la répartition des éléments cytologiques est ainsi plus régulière. Un bon étalement se réalise aussi par l'emploi d'une pince spéciale construite sur les indications de M. Barjon ; cet instrument est maintenant d'un usage courant dans le laboratoire de la clinique de M. le professeur Bondet.

Dessication. — Entre l'étalement et la coloration, la dessication constitue une étape à laquelle on ne saurait trop prêter attention : insuffisante, elle permet aux solutions aqueuses et autres employées dans la suite des manipulations d'entraîner hors de la lame des éléments

figurés, d'appauvrir d'autant la préparation. Peut-être même les inconvénients sont-ils plus grands encore, la formule leucocytaire peut-elle être modifiée dans sa nature, car la rapidité d'adhésion à la lamelle des polynucléaires, des lymphocytes, des cellules endothéliales, des hématies, etc..., n'est pas démontrée égale pour chaque sorte de cellules ; une catégorie de ces éléments peut donc être diminuée par les lavages en plus forte proportion que les autres, d'où modification de la formule et cause d'erreur. MM. Barjon et Cade font subir aux préparations une double dessiccation : la première immédiate par agitation rapide à l'air libre ou à 0^m50 environ au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ; elle est suivie d'une seconde dessiccation, lente, sous une cloche de verre, à l'abri des poussières atmosphériques ; les préparations sont ainsi abandonnées généralement 24 heures ; mais au bout de 12 heures, de 6 heures même, la dessiccation peut, à la rigueur, être considérée comme suffisante.

Fixation. — Nous pouvons alors procéder à la fixation ; notre fixateur de choix est l'alcool-éther (fixateur de Nikiforoff) ; nous le préférons au chloroforme (méthode de Josué) que préconise M. Ravaut et dont M. Audibert fait l'éloge : les préparations obtenues par ce procédé de fixation nous ont toujours présenté des éléments cellulaires plus vacuolés, plus déformés, bref plus altérés que par l'emploi du réactif de Nikiforoff.

Théoriquement la fixation n'est complète qu'au bout de deux heures ; mais si l'on est pressé de connaître les résultats de l'examen, une demi-heure, un quart-d'heure suffisent à la rigueur.

Coloration. — Sur la préparation ainsi fixée, de quels réactifs colorants allons-nous faire usage? L'hématéine éosine nous paraît le colorant de beaucoup le plus simple en ses manipulations et le plus constant dans ses résultats.

Nous laissons d'abord baigner la préparation dans une solution alunée d'hématéine ammoniacale à 1 ‰; la durée de ce premier bain peut être de 4 à 5 minutes; il ne faut pas craindre une surcoloration; l'hématéine, étant donnée ses affinités pour la nucléine colore les noyaux seuls en violet foncé. Après un lavage à grande eau nous plongeons la préparation dans une solution aqueuse d'éosine à 1 ‰ : le protoplasme se teint en rose; là non plus il ne faut pas redouter une surcoloration et laisser la préparation dans l'éosine moins de cinq minutes.

Il semblerait, en ces recherches où les leucocytes jouent le plus grand rôle, que le triacide d'Ehrlich doit être le colorant de choix, le triacide composé par exemple de fuchsine, de vert de méthyle et de jaune orange : à côté d'autres avantages en effet, le triacide colore les granulations des éléments cellulaires et principalement des neutrophiles. La mise en évidence des granulations est quelquefois le plus sûr moyen de reconnaître les polynucléaires altérés; le réactif d'Ehrlich permet aussi de dépister facilement les leucocytes éosinophiles dont les granulations, dans la pièce montée sur baume, ne sont plus rouge vif (par action de la fuchsine acide) mais lie de vin. Telle est l'opinion de beaucoup d'autres : MM. Barjon et Cade se montrent au contraire moins enthousiastes de la méthode. Après

de nombreux essais, l'emploi minutieux des divers produits chimiques entrant dans la composition du colorant, produits successivement commandés dans les divers centres de fabrication, il n'ont eu que des résultats inconstants. Même parmi les flacons arrivés tout fraîchement préparés de chez Gübler (Leipsig) quelques-uns renfermaient un réactif absolument inutilisable. M. Audibert (Les globules éosinophiles du sang; *Presse Médicale*, 29 octobre 1902) a rencontré lui aussi beaucoup de mécomptes dans la mise en pratique de la technique tracée par l'auteur allemand. Il signale « les multiples inconvénients d'une méthode qui doit, en grande partie, son renom à la réputation de celui qui l'a lancée et à l'admiration constante et peut-être intempestive des nombreux élèves jaloux d'être agréables au maître. » Ses griefs peuvent se résumer ainsi :

1° La méthode allemande exige des produits de première qualité ;

2° Leurs manipulations de préparation sont très laborieuses, très compliquées ; mieux vaut encore prendre le triacide tout fait chez Gübler à Leipsig ; mais le réactif s'altère au bout de 5 à 6 mois ;

3° La fixation qu'exige la coloration est délicate, elle exige des appareils spéciaux dont ne dispose pas le personnel de tous les laboratoires ; on peut employer le réactif de Josué, il est vrai. (Mais nous avons vu les raisons qui déterminent MM. Barjon et Cade à rejeter l'emploi du chloroforme) ;

4° Le temps de la coloration est trop variable et Sabrazès (Congrès de Lille 1899), le dit des plus élastiques : quelquefois 5 minutes représentent un maxi-

mum, d'autres fois 10 ou 15 heures suffisent à peine. De plus, les noyaux se colorent souvent difficilement : ils sont bleu pâle, leurs contours mal assurés et la distinction est souvent difficile entre des polynucléaires et des mononucléaires neutrophiles ;

5° La technique de coloration est très délicate ;

6° Il est impossible de connaître constamment le pouvoir colorant de son triacide.

Est-ce à dire que nous rejetons formellement l'emploi du triacide d'Ehrlich? Non, car en certaines circonstances, il peut rendre au cytologiste de réels services : par exemple, dans une préparation où les polynucléaires ont subi certaines altérations, le triacide colorant leurs granulations neutrophiles permettra de les différencier d'avec les cellules endothéliales, opération, qu'en ces conditions, d'autres réactifs rendent difficile et peu sûre. Mais de tels cas, si l'on se conforme à la technique du laboratoire de la clinique du professeur Bondet, deviennent exceptionnels et ce n'est qu'exceptionnellement aussi que nous employons le réactif d'Ehrlich.

Préparations sèches et préparations humides. — Avant de clore ce chapitre de la technique cytologique, nous voulons essayer de trancher une question qui récemment encore divisait les auteurs. A Paris MM. Widal et Ravant se cantonnaient dans les préparations sèches ; MM. Barjon et Cade, à Lyon, essayaient de remédier aux défauts de certaines préparations sèches, où s'altèrent toujours un peu les corps figurés, par la confection simultanée de préparations humides, en quelque sorte

vivantes : ils fixaient les éléments cellulaires conservés dans leur propre sérum par des vapeurs d'acide osmique et les coloraient de diverses façons. Ces préparations étaient montées sur des lames-cellules creuses recouvertes d'une lamelle, fermées à la paraffine. Les préparations ainsi obtenues, déclaraient-ils, sont très belles et inaltérables.

Or si ce premier qualificatif est exact, l'intégrité de la préparation — les autres lyonnais le reconnurent eux-mêmes — n'est que transitoire et, à moins d'une conservation rigoureuse à l'abri de la lumière, l'imprégnation des éléments par le bleu de méthylène s'efface : la préparation se décolore.

Aussi toutes les préparations sur lesquelles sont établies les formules cytologiques jointes à plus de 200 observations — leur collection — sont des préparations sèches et inaltérables.

Le procédé de la préparation humide ne doit pourtant pas être entièrement délaissé car il possède de réels avantages : il ne déforme pas les éléments cellulaires, en permet donc une qualification plus aisée, partant il constitue dans certains cas une précieuse ressource, Aussi, toutes les fois qu'il le sera possible, on fera d'un même liquide pathologique des préparations sèches et des préparations humides.

CHAPITRE II

Examen des Préparations

Notre préparation est terminée ; une technique minutieuse et suivie sans défaillances nous permet de la soumettre à l'examen microscopique. Si la tâche du technicien est maintenant notablement allégée, il n'en rencontrera pas moins encore des difficultés sérieuses, quelquefois insurmontables, dans la détermination des divers éléments cellulaires et leur répartition dans les catégories qu'on a permis d'établir les connaissances histologiques actuelles.

Microscope. — Un microscope ordinaire suffit, mais l'emploi de trois grossissements est utile. Le grossissement faible donne une vue d'ensemble de la préparation, permet de juger de la bonne répartition des éléments cellulaires, de remarquer immédiatement tel ou tel corps cellulaire plus intéressant ; il sert aussi à retrouver rapidement un tel élément lorsque, par une mobilisation intempestive ou volontaire de la prépara-

tion, il a quitté le champ d'un plus fort grossissement. L'objectif à immersion est indispensable pour l'étude complète des caractères morphologiques de chaque élément.

L'outillage le meilleur est une trousse de trois objectifs Leitz : un n° 4, un n° 7, enfin un objectif à immersion à 1/12.

Numération. — Dans les cas où chaque variété de cellules est facile à déterminer, il est bon d'établir le pourcentage par le procédé de numération suivant : dans une série de champs microscopiques, on compte le nombre d'unités de chaque sorte d'éléments figurés jusqu'à ce que la somme de tous les éléments comptés se chiffre 100 ; on a ainsi la proportion pour 100 de chaque espèce de cellules. Dans la pratique ordinaire, on a intérêt à établir cette proportion sur 4 ou 500 unités.

Etude des éléments. — L'absence d'éléments cellulaires a été notée un certain nombre de fois dans les examens cytologiques et cette constatation a pu devenir le point de départ de quelques erreurs. Car deux interprétations sont possibles : le liquide est normal ou bien il est pathologique. Par exemple le liquide céphalo-rachidien d'un sujet sain, la plupart des auteurs l'admettent à Paris (Widal, Sicard et Ravaut) comme à Lyon, ne renferme aucun élément figuré (pour Lewkowicz cependant, en ces mêmes conditions, on y trouve toujours quelques lymphocytes). Or, en cas d'épanchement pathologique sous-arachnoïdien sans

éléments figurés, la cytologie peut faire dévier le diagnostic. De telles circonstances se sont présentées : MM. Jules Courmont et Montagard, le 23 mai 1902, communiquaient à la Société médicale des hôpitaux de Lyon, un cas de méningite tuberculeuse, confirmée par l'autopsie et l'inoculation expérimentale, où la cytologie avait été négative ; ça et là quelques hématies et quelques leucocytes mononucléaires extrêmement rares : il était « impossible d'établir une formule quelconque ».

Dans la même séance, MM. Mollard et André exposaient l'évolution d'une méningite tuberculeuse également confirmée, à cytologie négative.

M. le médecin-major Chavigny, répétiteur à l'Ecole du service de santé militaire, avait, quelque temps auparavant, produit un cas analogue : chez un sujet de vingt-deux ans atteint de méningite tuberculeuse vérifiée *post mortem*, la ponction de Quincke au cours de la maladie avait montré l'absence de tout élément figuré dans le liquide céphalo-rachidien.

Aussi MM. Barjon et Cade admettent-ils un groupe de méningites tuberculeuses où les recherches cytologiques sont négatives.

Ces cas de cytologie négative sont d'ailleurs très exceptionnels ; les éléments qui se présentent à l'examen sont le plus souvent des globules rouges, des leucocytes, des cellules endothéliales ; le cytologiste, comme nous le disions plus haut, n'est pas sans éprouver quelquefois de réelles difficultés à les caractériser.

I. — **Globules rouges.** — Les hématies de petit volume, d'une belle couleur rouge homogène (par em-

ploi de l'hématéine éosine), sans noyaux, circulaires s'ils sont vus de face, biconcaves s'ils se présentent de champ, sont très généralement distingués au premier coup d'œil. Mais à côté d'eux se rencontre parfois une forme curieuse de globules rouges : les *hématies à noyaux*. Chacun sait que les globules rouges des ovipares seuls sont nucléés : dans le sang humain physiologique normal, ils n'existent donc pas si ce n'est dans le sang du fœtus durant les six premiers mois de la gestation (comme d'ailleurs dans le système circulatoire de tous les embryons des vivipares).¹ À l'état pathologique, le sang des leucémiques, de certains anémiques en renferme.

Ces hématies nucléées peuvent jusqu'à un certain point simuler des lymphocytes ; on les distingue de ces derniers par les caractères suivants : 1° leur noyau est plus petit, occupe une place moins prépondérante dans le corps cellulaire ; 2° ce noyau est coloré plus vivement que celui du lymphocyte et l'absorption énergique des divers colorants fait de lui une tache éclatante au milieu de la cellule sanguine ; 3° le protoplasma périphérique présente toutes les réactions du tissu hémoglobique, tandis que le protoplasma des lymphocytes est réduit à une zone extrêmement mince, transparente et incolore.

M. Audibert signale de son côté l'écueil qui consisterait à prendre ces globules rouges nucléés pour des éosinophiles. Afin de permettre d'éviter cette erreur, il donne les signes distinctifs suivants : le volume des hématies nucléées est moindre que celui des éosinophiles ; leur protoplasma est dépourvu de granulations et uni-

formément rouge ; leur noyau est intensément coloré et permet d'apercevoir un riche réseau chromatique.

II. — **Globules blancs.** — Les globules blancs sont en cytologie d'un intérêt bien plus considérable : ce groupe cellulaire comprend un certain nombre de types d'aspects, de réactions, de fonctions différentes.

A. — *Lymphocytes et petits mononucléaires.* — Les lymphocytes, de dimensions analogues à celles des globules rouges sont caractérisés, comme nous le disions plus haut, par la prépondérance du noyau vivement teinté par les couleurs d'aniline et entouré d'une couronne protoplasmique d'une minceur extrême, mal sensible aux réactifs colorants, transparente, difficile à apercevoir. Nombre d'auteurs appellent encore ces éléments petits mononucléaires ; nous réservons ce terme à des leucocytes de faible taille, pourvus d'un seul noyau et d'un protoplasma périphérique nettement appréciable. Mais, hâtons-nous d'en convenir, la distinction entre ces deux globules est peut-être tout artificielle. En plusieurs cas, en effet, MM. Barjon et Cade, pratiquant des examens successifs d'un même épanchement ont été surpris de voir dans les formules établies chaque fois, baisser la proportion des petits mononucléaires, augmenter celle des lymphocytes, surpris de voir, en un mot, les lymphocytes se substituer aux petits mononucléaires. La chose est facile à vérifier, dans les deux observations ci-dessous citées, par la comparaison des formules cytologiques de chaque ponction.

OBSERVATION I

G... (Auguste), Saint-Augustin, n° 27. Paludisme ancien. Douleur dans le côté gauche, péricapnité.

Pendant son séjour dans le service, début brusque le 11 février 1902. Point de côté, température 39°. Epanchement pleural droit.

1^{re} ponction le 14 février. — Liquide hémorrhagique contenant 26.000 globules rouges par millimètre cube :

Polynucléaires	68 %
Petits mononucléaires	30 %
Grands mononucléaires	1 %
Eosinophiles	1 %

Pas de lymphocytes à proprement parler, rien que des petits mononucléaires,

Séro-diagnostic tuberculeux positif (P. Courmont).

Sang + 5. Plèvre = + 5

Inoculation au cobaye, ulcération caséuse au point d'inoculation.

2^e ponction le 20 février. — La fièvre est tombée, apyrexie.

Polynucléaires	1 %	
Petits mononucléaires	22	} 80 %
Lymphocytes	58	
Grands mononucléaires transitoires	17 %	
Cellules endothéliales	2 %	

Vu: 1 éosinophile, 2 globules rouges à noyau.

Séro-diagnostic. Plèvre = + 5

OBSERVATION II

(due à l'obligeance de M. le médecin-major GEORGES)

Z..., 21 ans, hôpital militaire Desgenettes. Pleurésie droite primitive.

Pas d'antécédents héréditaires ni personnels. Début brusque aigu le 18 janvier 1902, par frisson, point de côté. Refroidissement après une marche.

1^{re} ponction le 8 février 1902. — 21 jours après le début. Liquide clair, assez riche en éléments cellulaires.

<i>Petits mononucléaires</i>	62	} 85 %
<i>Lymphocytes</i>	23	
<i>Polynucléaires</i>	70	%
<i>Eosinophiles</i>	5	%
<i>Grands mononucléaires</i>	3	%

Globules rouges assez nombreux.

2^e ponction le 22 février 1902. — Liquide clair, limpide, assez riche en éléments cellulaires.

<i>Petits mononucléaires</i>	25,5	} 85 %
<i>Lymphocytes</i>	59,5	
<i>Polynucléaires</i>	2	%
<i>Eosinophiles</i>	5	%
<i>Grands mononucléaires</i>	3	%
<i>Cellules endothéliales</i>	5	%

Globules rouges assez nombreux, inoculation au cobaye. Positive, tuberculose viscérale généralisée (poumons, foie, rate).

Séro-diagnostic avec liquide pleural, négatif, même à 1/3. Terminaison : malade envoyé en convalescence.

Ces constatations nous autorisent à émettre cette hypothèse que les lymphocytes sont peut-être une transformation des petits mononucléaires.

B. — *Grands mononucléaires*. — Si l'on peut admettre des transitions insensibles de morphologie et de physiologie pathologique entre lymphocytes et petits

mononucléaires, les différences paraissent bien plus tranchées entre petits et grands mononucléaires. De 15 à 20 m. de diamètre, munis d'un noyau bien coloré entouré d'une large couronne protoplasmique, ces derniers paraissent appelés à jouer dans les épanchements intra-séreux un rôle infiniment plus actif et mieux connu que les lymphocytes et les petits mononucléaires : ils sont doués de propriétés phagocytaires remarquables, plus puissantes encore que celles des polynucléaires neutrophiles. Ceux-ci — et c'est pourquoi Metchnikoff les nomme microphages — englobent des microbes tels que des streptocoques ou des pneumocoques ; les grands mononucléaires, eux, sont des macrophages : ils absorbent, parviennent quelquefois à détruire le bacille de Koch : ils digèrent couramment de gros éléments cellulaires comme les hématies et les leucocytes multinucléés.

C. — *Polynucléaires*. — Les polynucléaires qu'on trouve de façon courante dans le champ du microscope sont généralement faciles à reconnaître à leurs noyaux multiples (à leur noyau polylobé plus exactement) vivement colorés et à leurs grandes dimensions : ils ont 2 ou 3 fois le volume d'un globule rouge ordinaire. Ces caractères sont bien moins nets lorsqu'ils ont subi des altérations ; ces altérations se présentent sous 3 modalités principales : formation de vacuoles dans le protoplasma, déchiquetage des bords, fragmentation du noyau. Cet état de déformation peut être assez accentué pour les rendre méconnaissables : en cette occurrence, le triacide d'Ehrlich — et dans notre critique du

chapitre précédent nous lui accordions cet avantage — devient un précieux procédé de diagnostic différentiel : décelant les granulations neutrophiles des polynucléaires, il les distingue des autres éléments cellulaires avec lesquels il est trop facile de les confondre.

D. — *Eosinophiles*. — Quelquefois, notre colorant préféré, l'hématéine éosine, met en évidence dans le protoplasma de certains leucocytes polynucléaires de grosses granulations fortement teintées en rose foncé : nous avons là des éosinophiles.

Rencontrés assez fréquemment en proportion minime, ces éléments s'imposent parfois à l'attention par une abondance relative ; nous possédons notamment deux observations curieuses à ce point de vue. L'une a été recueillie dans le service de M. le professeur Bondet, l'autre à l'hôpital Desgenettes dans le service de M. le médecin-major Georges. Nous avons cité plus haut cette dernière comme un exemple de substitution des lymphocytes aux petits mononucléaires.

Voici la première :

OBSERVATION

Un homme sans antécédents héréditaires ni personnels travaillait dans une fabrique de colle comme coupeur de gélatine. L'usine comprenait une série de chambres surchauffées de température variant entre 40° et 50°. Il faisait fonctionner un appareil placé près d'un ventilateur mécanique qui lui envoyait un courant d'air directement sur le côté droit. Il s'exposait souvent à ce courant d'air en revenant couvert de sueur des chambres surchauffées. Il fait une pleurésie droite à

épanchement peu considérable. Quelque temps après une simple ponction exploratrice, tout s'est résorbé. La formule cytologique du liquide ponctionné au 21^e jour (moment où, nous le verrons plus loin, les variations de la formule sont terminées) a donné :

Polynucléaires.....	20 %
Lymphocytes.....	21 %
Grands mononucléaires.....	5 %
<i>Eosinophiles</i>	12 %
Cellules endothéliales.....	42 %

Le séro-diagnostic tuberculeux et l'inoculation au cobaye ont été négatifs. Le sujet d'autre part, a quitté le service n'ayant plus ni matité, ni modification des vibrations, la respiration bien entendue jusqu'en bas du thorax. Aucun signe aux sommets. Depuis cette maladie il s'est toujours bien porté, a engraisé de 6 kilogs. Il a très bon appétit.

Ainsi donc de ces deux cas d'éosinophilie, le premier (5 %) se rapporte à un épanchement démontré tuberculeux par inoculation ; le second peut, au contraire, être considéré comme le type de la *pleurésie a frigore* dont l'existence est si discutée.

Eosinophilie notable encore dans une observation de pleurésie mécanique où M. Barjon a trouvé :

Cellules endothéliales.....	73 %
Mononucléaires et lymphocytes	10 %
Polynucléaires	7 %
<i>Eosinophiles</i>	10 %

Dans une hydrocèle symptomatique d'une tuberculose testiculaire, M. Barjon a compté :

<i>Eosinophiles</i>	5 %
Lymphocytes	25 %
Cellules endothéliales.....	70 %

A ces cas divers, nous n'avons pu découvrir une condition commune qui pût être soupçonnée de causer l'éosinophilie et, jusqu'à présent, le déterminisme de l'afflux de ces leucocytes nous a échappé.

III. — **Cellules endothéliales.** — A côté du groupe si important et si disparate des leucocytes se placent les cellules endothéliales. Lorsqu'elles sont typiques comme dans certaines pleurésies mécaniques bien nucléées, nettement découpées en polygones irréguliers et groupées — caractère important — en placards de trois, quatre ou cinq éléments, leur distinction d'avec les autres corps figurés, communément rencontrés en cytologie, ne souffre pas de difficultés sérieuses et ne prête à aucune discussion.

A l'état isolé, si des altérations sont survenues, elles posent le problème parfois insoluble de leur différenciation d'avec les grands mononucléaires : M. Barjon (Soc. méd. hôp. Lyon. 7 et 14 mars 1902) s'est attaché à faire ressortir la morphologie des cellules endothéliales altérées : « Tantôt elles se gonflent démesurément, deviennent pâles avec un contour très arrêté et un noyau diffus. La distinction est facile. Tantôt elles se vacuolisent, prennent un contour irrégulier, le noyau se désagrège peu à peu ; tout l'élément se colore mal, la destruction est encore possible. Enfin, parfois, ces cellules se déchiquettent par leur bord, elles perdent peu à peu leur protoplasma qui ne se colore plus ou très mal et reste composé d'un noyau large présentant une coloration violette diffuse, entouré d'une très mince bande de protoplasma à peu près incolore. Cette dernière forme

ressemble tout à fait à un grand mononucléaire. » Cette troisième modalité a dû et doit encore induire souvent en erreur les histologistes ; MM. Barjon et Cade reconnaissent s'être trompés quelquefois au début de leurs recherches, avoir « un peu abusé des grands mononucléaires » ; M. Ravaut paraît aussi avoir mentionné, dans ses observations, des grands mononucléaires plus souvent qu'on n'en retrouvera désormais si l'on met à profit en leur étude les récentes indications de M. le docteur Barjon.

D'ailleurs, les ressemblances entre grands mononucléaires et cellules endothéliales ne se limiteraient pas à la morphologie ; de récents travaux prêtent aux cellules endothéliales, dans l'organisme malade, un rôle phagocytaire analogue à celui des grands mononucléaires. Contrairement à l'opinion de M. Sacquépée qui refuse à ces corps endothéliaux isolés tout pouvoir phagocytaire, MM. Widal, Ravaut et Dopter les dépeignent comme des phagocytes macrophages tandis que les polynucléaires seraient des microphages : dans certaines préparations, en effet, on peut les voir englober en leur protoplasma des hématies, des lymphocytes et même des polynucléaires. D'après ces mêmes auteurs ces modifications morphologiques ont pour but de permettre à la cellule endothéliale une adaptation fonctionnelle qui fait d'un élément de revêtement (le placard endothélial), un élément de défense de l'organisme (la cellule endothéliale isolée, phagocytaire). Depuis longtemps déjà d'ailleurs Metchnikoff et ses élèves nous ont appris que les cellules endothéliales des vaisseaux sont douées de mouvements propres : En 1892, Werigo (Annales de l'Institut

Pasteur) montrait les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins capables d'englober les grains inertes et les microbes par leur activité amiboïde.

IV. — **Cellules cancéreuses.** — Bien avant qu'il fût question d'ériger l'étude des cellules d'épanchement en méthode de diagnostic couramment appliquée dans les laboratoires, les recherches de certains histologistes avaient appelé l'attention sur le contenu cellulaire des pleurésies et ascites cancéreuses.

Ehrlich en 1880 signalait, dans trois pleurésies cancéreuses sur sept examinées, des éléments spécifiques, découverts dans le liquide de ponction qui lui permirent de poser un diagnostic confirmé à l'autopsie. C'étaient des particules formées d'amas cellulaires composés de nombreuses et grandes cellules difficiles à délimiter les unes des autres, pourvues d'un gros noyau. Au sein du protoplasma se notaient des phénomènes de dégénérescence graisseuse ou vacuolaire. Dans les amas cellulaires, un ou plusieurs éléments portaient les marques de cet état de dégénérescence ; d'autres, détachés de l'agrégat, flottaient à l'état libre dans le liquide. Pour Ehrlich, les agrégats ont seuls une valeur diagnostique ; les cellules isolées peuvent être de simples cellules épithéliales de la plèvre desquamée et on en rencontre dans les épanchements non cancéreux.

C'est encore l'agrégat qui impose leur cachet de spécificité aux cellules cancéreuses décrites par Quincke en 1882. Elles existaient dans les épanchements cancéreux à côté des leucocytes, des hématies et des cellules endothéliales desquamées. Selon Quincke, on recon-

naît les cellules cancéreuses des endothéliales (car les unes et les autres présentent des analogies de dégénérescence vasculaire ou graisseuse) à ce que les premières sont plus nombreuses, plus grandes, plus irrégulières et surtout (caractère distinctif principal) sont réunies en agrégats plus ou moins volumineux. De plus elles donneraient avec l'iode la réaction du glycogène tandis que les cellules endothéliales ne se modifieraient pas par ce réactif.

Les observations d'Unverricht (1882), de Purjes (1883), de Schwalbe (1891), de Fraenkel (1891, 1892, 1893) plaident aussi en faveur de la spécificité des amas cellulaires rencontrés dans les épanchements cancéreux.

MM. Devic et Chatin (*Province médicale de 1894*) partagent l'opinion des histologistes allemands : dans un cas de cancer stomacal à forme larvée ayant provoqué une pleurésie séreuse, ces auteurs ont trouvé des « éléments cellulaires spéciaux » qui, d'après les recherches d'Ehrlich, de Quincke et les leurs « n'ont de véritable valeur diagnostique que par leur groupement en agrégats ». Quand elles sont isolées, ces cellules « peuvent ressembler à s'y méprendre aux cellules tuméfiées et dégénérées provenant d'une plèvre, siège d'une inflammation quelconque ». Ces cellules groupées en « amas d'apparence spéciale de 4 ou 5 unités » les mirent sur la voie du diagnostic. Elle n'avaient pas subi la dégénérescence graisseuse et présentaient des granulations se colorant bien par l'éosine et pas du tout par les couleurs basiques d'aniline.

MM. Regaud et Lacroix ont aussi décrit dans l'ascite

cancéreuse des éléments cellulaires assez spéciaux auxquels M. Regaud (Congrès français de médecine, Lyon 1894) attribue une valeur diagnostique très grande. Dans un cas de cancer péritonéal confirmé à l'autopsie et dans un cas semblable cliniquement indiscutable MM. Regaud et Lacroix ont trouvé: 1° des hématies; 2° des leucocytes; 3° enfin de très grosses cellules ayant de 20 à 30 fois le diamètre d'un globule rouge, irrégulièrement globuleuses avec un ou, plus souvent, plusieurs noyaux périphériques. Ces grosses cellules renfermaient une ou plusieurs vacuoles. A côté de ces cellules, d'autres analogues mais plus petites et sans vacuoles. Les grosses cellules vasculaires n'étaient autres que les cellules *phylasiphores* (Virchow, *Pathologie cellulaire*, trad. Picard 1861, p. 335). D'autres auteurs les avaient retrouvées dans le liquide ascitique cancéreux et dans d'autres sérosités normales ou pathologiques; Ranvier par exemple, chez le chat. (Académie des Sciences 14 avril 1890).

Au microscope, au moyen d'une platine chauffante, les cellules phylasiphores se montraient douées d'une grande vitalité: elles se déplaçaient par rapport aux autres cellules, présentaient des changements de forme pseudopodiques et des variations dans le volume et la disposition des globes clairs intra-cellulaires.

M. Regaud — et M. le professeur Renaut donne son assentiment à cette opinion — est très catégorique sur la nature de ces curieux corps figurés: avec ou sans vacuoles, ces 2 types de cellules ne sont que deux états différents d'un seul élément: *la cellule endothéliale du péritoine infectée et cancéreuse*.

Bien qu'elles ne soient pas exclusivement rencontrées dans les épanchements cancéreux, lorsqu'elles sont en grand nombre, pense M. Regaud, ces « cellules endothéliales, éventuellement physaliphorés, isolées ou réunies en agrégats » sont une excellente indication de la nature cancéreuse de l'épanchement.

Il n'y a pas, pour M. le professeur agrégé Regaud, un caractère primordial dans le groupement des cellules cancéreuses, comme le voudraient MM. Devic et Chatin : cette formation en agrégat serait due à des coagulations fibrineuses.

MM. Barjon et Cade joignent une nouvelle observation au dossier de l'histologie des épanchements cancéreux.

OBSERVATION (inédite)

B... Marie 64 ans, salle B. Teissier. Néoplasme du sein droit; pleurésie hémorragique du même côté.

Tumeur du volume d'une mandarine, adhérente à la peau, à la glande et au muscle sous-jacent, rétraction du mamelon, peau d'orange. Pas de ganglions volumineux. Elle a beaucoup maigri et perdu l'appétit. Il y a 15 jours elle a pris froid; le lendemain elle a eu de la dyspnée, mais ni frisson ni sensation de fièvre.

Dans toute la base du poumon droit, abolition des vibrations, matité, disparition du murmure vésiculaire, souffle, égophonie, pectoriloquie aphone.

Vingt jours après son entrée (le 19 janvier 1901) la malade est en tel état de cyanose et de dyspnée qu'une thoracentèse d'urgence est pratiquée : on obtient ainsi 2 litres d'un liquide fortement hémorragique.

Dans la nuit du 24 au 25 janvier la malade se lève sans

présenter rien de particulier; elle meurt brusquement en se recouchant.

L'autopsie montre un cancer du sein droit propagé à la plèvre droite : le feuillet pariétal de cette séreuse est épaissi et renferme des noyaux néoplasiques fortement saillants. Le poumon droit présente aussi des nodules de généralisation à sa surface et dans son parenchyme; le poumon gauche et le foie sont aussi infectés.

Or l'étude du liquide obtenu par thoracenthèse permet les constatations suivantes. Le liquide très hémorragique contient des globules rouges très bien conservés; quelques lymphocytes et surtout un nombre important de grandes cellules mononucléées: leur noyau unique est bien coloré; à la périphérie, peut-être à la surface de la cellule, quelques grosses granulations colorées en bistre (et non en noir comme les particules graisseuses) par les vapeurs d'acide osmique, en bleu noirâtre par la thionine, en bleu pâle transparent par le bleu de méthylène. Quelques-unes de ces cellules ont un aspect gonflé, vésiculeux et paraissent pourvues d'une paroi nette et épaisse.

Ces cellules sont souvent groupées par 2, 3, 5, 7. On voit même de grands amas, les uns irréguliers (contenant jusqu'à 18 éléments), les autres régulièrement arrondis en rosace.

Il est difficile de rattacher avec certitude ces cellules à un groupe déjà rencontré et décrit, de dire si l'on a affaire à des cellules spécifiques cancéreuses ou à des cellules endothéliales altérées et infectées.

Somme toute, l'étude histologique d'un épanchement cancéreux est fort délicate et fait courir au cytologiste de réelles chances d'inexactitude. Il doit se préoccuper de ne pas confondre les vulgaires cellules endothéliales desquamées avec les éléments spécifiques décrits par Ehrlich, Quincke, Virchow et retrouvés par MM. Devic et Chatin. Le seul caractère distinctif net de ces élé-

ments en effet est, en dernière analyse, leur disposition en agrégats. Or, nous le savons bien, l'agrégat, le placard est une des formes le plus volontiers épousées par les cellules endothéliales ; d'autre part, en s'altérant, celles-ci deviennent irrégulières et remplies de vacuoles, autant de caractères qui les rapprochent encore des corps figurés cancéreux ; aussi la différenciation ne laisse pas d'être fort laborieuse.

Certains éléments peuvent échapper à l'attention. — Dans l'examen des préparations donc, la détermination de la nature de certaines cellules ouvre un champ à la discussion et prête à des interprétations erronées ; mais, autre source d'erreurs, cette étude des préparations cytologiques, peut-être incomplète, laisser inaperçus des éléments de haute importance. Nous n'en voulons qu'un exemple : depuis deux ans, le liquide des hydrocèles était étudié au point de vue cytologique par des auteurs nombreux et compétents : Widal et Ravaut (XIII^e Congrès international de médecine. Paris, 1900, et Soc. biol., décembre 1900), Tuffier et Milian (Soc. biol., janv. 1901), Dopter et Tanton (Soc. méd., hôp. Paris, juillet 1901) et Julliard (thèse de Genève 1901), lorsque MM. Barjon et Cade reprirent la question : ils montrèrent dans l'hydrocèle essentielle, exempte de ponctions avant celle de leur examen, la présence presque constante des spermatozoïdes, dont la proportion atteignait, en un cas 70 %. L'importance de cette découverte ne relève pas seulement de la théorie pathogénique qu'elle a permis d'édifier solidement, mais encore d'une remarque qu'elle nous autorise à faire sur la cytologie

en général. Des éléments cellulaires, de signification importante, peuvent fort bien échapper à l'observateur, qui ne doit pas se hâter, sous peine d'inexactitude possible, de baser une opinion trop absolue sur un petit nombre d'examens négatifs.

CHAPITRE III

Interprétation des Formules

Les imperfections de la technique, les hésitations souvent si légitimes, nées de la morphologie complexe des éléments cellulaires, donnent la clef de beaucoup de résultats contradictoires, de divergences d'opinions, d'interprétations erronées.

D'autres écueils restent encore ; en ce chapitre, je voudrais signaler les dangers d'une méthode d'esprit séduisante par l'artificielle clarté de ses résultats, par la facilitation qu'elle apporte aux opérations de mémoire : la schématisation. Les innombrables rameaux de la science médicale, nés chacun d'un ensemble de faits rarement connus à fond, renferment une telle complexité de processus, que les lois absolues, exceptionnelles d'ailleurs, sont généralement nuisibles, car elles ne tiennent compte que de quelques résultats et en négligent d'autres moins nets, et la raison ignorée de

cette différence de netteté est peut-être d'une importance telle, que n'en pas tenir compte, c'est faire fausse route.

La cytologie n'échappe pas à cet inconvénient des lois rigoureuses, aux dangers du schéma : le schéma, en cytologie, conduit à la formule trop précise, à la formule qui met en évidence la catégorie des éléments cellulaires les plus nombreux et fait abstraction des minorités parfois importantes, souvent fort significatives.

MM. Widal et Ravaut, par exemple, ont cru pouvoir donner au problème du contenu cellulaire des épanchements pleuraux, la triple solution suivante : dans les pleurésies tuberculeuses, la formule cytologique est lymphocytaire, polynucléaire dans les pleurésies septiques, endothéliale dans les épanchements mécaniques. Cette solution limpide et séduisante semble démontrée par un faisceau serré de faits d'observation ; à l'analyse, pourtant, on est frappé de voir négligées des variations sensibles dans les formules de ces observations : telle note 93 % de lymphocytes et aucun polynucléaire ; telle autre 66 % de lymphocytes et 27 % de polynucléaires (exemples empruntés à MM. Barjon et Cade, *Arch. gén. de Méd.*, août 1902) : ces deux formules sont évidemment lymphocytaires ; pourtant, les polynucléaires, en proportion de 27 % dans la seconde observation, ne sont pas quantité négligeable, et le cytologiste doit tenir compte de cette différence des formules.

C'est ainsi, d'ailleurs, — et nous en parlons par anticipation — que MM. Barjon et Cade sont arrivés à la découverte de la polynucléose initiale relative ou absolue

des pleurésies tuberculeuses. En un mot, il y a des formules *mixtes* ; on doit en tenir compte ; trop de points obscurs demeurent encore dans le déterminisme des formules cytologiques, pour qu'on ait le droit de négliger l'étude de ces modalités intermédiaires : elles sont le fil conducteur qui maintient le chercheur dans la voie de l'observation scientifique et l'empêche de s'égarer dans le domaine d'une généralisation hâtive, tentante mais erronée.

Dans la critique de cet empressement à la généralisation, nous faisons moins allusion au cyto-diagnostic des pleurésies qu'à celui des épanchements pathologiques dans les autres séreuses.

Car le schéma de MM. Widal et Ravaut demeure vrai dans la grande majorité des cas d'**épanchements pleuraux**. Dans un travail basé sur 52 observations où la cytologie a été contrôlée rigoureusement par le séro-diagnostic et l'inoculation expérimentale, notre ami, le docteur Plisson, confirme les résultats des travaux parisiens, tout en formulant quelques propositions correctrices de grand intérêt. Nous-même ferons ressortir plus loin les variations apportées dans la cytologie de ces *pleurésies tuberculeuses* par l'évolution du mal et les infections secondaires.

La polynucléose des *pleurésies septiques* n'est contestée d'aucun auteur et la prédominance des cellules endothéliales dans la *pleurésie cardiaque* est encore établie par les observations que publie notre ami Barège dans sa thèse de Doctorat.

Mais si les formules brèves et précises de MM. Widal et Ravaut conservent une indiscutable valeur dans la

détermination de la nature des pleurésies, la généralisation de la méthode aux autres épanchements pathologiques a donné des résultats bien moins satisfaisants. C'est en ces cas, semble-t-il, que le terme de cyto-diagnostic implique des promesses qu'il ne peut toujours tenir et devrait se remplacer par l'appellation plus modeste de cyto-examen.

Après la plèvre, c'est l'**espace sous-arachnoïdien** qui a attiré les plus nombreuses investigations. La ponction de Quincke, pratiquée dans les *méningites aiguës* par MM. Widal, Sicard et Ravaut leur fournit un liquide dont l'étude cytologique les encouragea à poser la règle suivante : dans les méningites tuberculeuses la lymphocytose domine; si la polynucléose l'emporte, le bacille de Koch est hors de cause. De nombreux cliniciens (V. Griffon par exemple), après expériences personnelles déclarèrent se rallier à cette opinion. Mais en même temps se publiaient des observations en contradiction absolue avec la loi dont MM. Widal, Sicard et Ravaut prenaient la responsabilité. MM. J. Courmont et Montagard, MM. Mollard et André, M. le médecin major Chavigny ne trouvaient rien dans des méningites tuberculeuses confirmées à l'autopsie; Rendu (cité par Marcou-Mutzner) se fiant à la lymphocytose rencontrée dans le liquide céphalo-rachidien diagnostiquait méningite tuberculeuse une fracture du crâne méconnue; Méry et Babonneix (*Soc. Pédiatrie*, fév. 1902), devant une lymphocytose pure et abondante prennent pour une méningite tuberculeuse une fièvre typhoïde à forme méningée. En un autre ordre de contradictions, MM. Barjon et Cade, dans trois cas de granulie ménin-

gée vérifiée à l'autopsie notaient un pourcentage élevé de polynucléaires: 30, 31 et 44 %. Mieux encore, dans des tuberculoses méningées anatomiquement vérifiées, la prédominance polynucléaire a été constatée par Bernheim et Möser (*Wien. Klin. Wochens* 1897), Lewkowicz (Dryeglad le Karski 1900) dans 20 % des cas; par Marcou-Mutzner (*Arch. génér. de Méd.* 1901); par Méry et Babonneix; par Guinon et Simon (*Soc. Pédiatrie* 1902) dans un cas. Dans un autre cas relaté par MM. Guinon et Simon une première ponction fut lymphocytaire, une seconde nettement polynucléaire, les cultures demeurant cependant stériles. Or beaucoup de ces épanchements ne pouvaient expliquer leur polynucléose ni par la présence d'un foyer caséux ni par une infection surajoutée (nous reviendrons plus loin sur le rôle de ces deux conditions morbides).

Ne trouvons-nous pas encore une violation flagrante de la loi de Widal dans cette polyomyélite antérieure aiguë où deux ponctions lombaires donnèrent à MM. Triboulet et Lippmann une mononucléose presque absolue?

Dans certaines *lésions chroniques* du système nerveux central et des méninges : tabès, paralysie générale, méningo-myélite syphilitique, sclérose en plaques, Widal, Ravaut, Sicard et Monod ont noté la lymphocytose du liquide céphalo-rachidien. Mais la cytologie ne semble pas, jusqu'à présent du moins, pouvoir renseigner sur la nature des lésions : nous ne pouvons incriminer toujours la syphilis (comme tendent à le faire Babinski et Nageotte, en dehors de la tuberculose) puisque MM. Barjon et Cade ont constaté

une formule lymphocytaire dans une maladie de Friedreich (où la syphilis n'est pas en cause); dans l'étiologie de la sclérose en plaques d'autre part on ne voit pas non plus figurer la syphilis. D'autres auteurs attribuent cette lymphocytose à la chronicité des lésions méningées (Widal) ou à certaines intoxications chroniques (comme l'impliquerait une méningite alcoolique chronique à prédominance de lymphocytes dans une observation de Dufour). En somme la question demeure encore entourée d'obscurités.

Dans les *maladies mentales*, le cyto-examen du liquide céphalo-rachidien a donné quelques résultats. Il ressortirait des travaux de Séglas et Nageotte, de Devaux et Dupré que le liquide céphalo-rachidien renferme des lymphocytes dans les cas de paralysie générale et ne contient aucun élément figuré dans les affections mentales qui en sont indépendantes.

Des faits contradictoires surgissent de nouveau à propos du *zona*. Les recherches de Brissaud, de Sicard, de Dopter, puis de Widal et Lesourd, laissaient espérer que le cytodagnostic, positif (lymphocytes) dans le zona spinal, négatif dans le zona périphérique, servirait à différencier ces deux affections l'une de l'autre. Par contre Achard, Lœper, Laubry, obtiennent, sur 17 cas, 9 cytodiagnostics positifs, 8 cytodiagnostics négatifs, sans que les cas positifs semblent se rapporter plus spécialement à des zonas spinaux.

Somme toute, la cytologie céphalo-rachidienne est peut-être en voie de découvertes intéressantes; quelques résultats semblent acquis déjà, mais les exceptions sont nombreuses et difficiles à expliquer: en tout cas, vouloir

appliquer au liquide céphalo-rachidien les données de la cytologie pleurale, c'est certainement tomber dans l'erreur.

Les épanchements de la **vaginale** semblent au contraire se conformer davantage aux processus pleuraux : Widal et Ravaut, Tuffier et Milian, Dopter et Tanton, s'accordent à reconnaître la prédominance endothéliale dans les hydrocèles essentielles, lymphocytaire dans les épanchements symptomatiques de tuberculose testiculaire, polynucléaire dans les épanchements de nature infectieuse. (Épididymite blennorrhagique.) Ch. Julliard déclare, de son côté avoir obtenu dans la question des résultats analogues à ceux des épanchements pleuraux. Si l'on tient compte de la présence des spermatozoïdes dans l'hydrocèle essentielle (Barjon et Cade) et des causes de variations de la formule dans l'évolution de l'affection, citées et commentées au chapitre IV, on peut trouver dans le cytodagnostic des hydrocèles un adjuvant précieux aux données cliniques. Mon excellent camarade, le docteur Aubert, met d'ailleurs fort bien ces faits en lumière dans son travail inaugural.

Les **séreuses articulaires** au contraire obéissent, au point de vue cytologique, à des influences capricieuses et mal connues ; en rattachant la polynucléose aux arthrites rhumatismales et blennorrhagiques et la lymphocytose aux arthrites tuberculeuses, Widal et Ravaut, Achard et Loeper, Dopter et Tanton avancèrent une chose que ne confirmèrent pas toujours les travaux ultérieurs. Par exemple certaines vieilles arthrites tuberculeuses offrent de la polynucléose et Dopter et

Tanton ne virent que des lymphocytes dans une arthrite blennorrhagique ; ces mêmes auteurs citent un cas d'hydarthrose tuberculeuse avec lymphocytes et polynucléaires en nombre égal.

Faut-il donc, avec Ch. Julliard, refuser tout rôle, dans le déterminisme des formules articulaires, à la nature de l'épanchement et ne voir dans le cytodagnostic que le reflet de l'acuité du processus morbide ? Sans nier l'influence marquée de l'acuité du mal, nous ne pouvons faire abstraction de la spécificité de l'épanchement ni de l'influence considérable des agents extérieurs (mécaniques, physiques ou chimiques) sur la séreuse articulaire : la leucocytose de ses épanchements dépend certainement encore d'autres conditions mal connues dont la découverte mettrait un peu de précision dans la cytologie trop précaire des articulations.

La gravité des **ponctions intrapéricardiques** n'a pas permis la réunion d'un grand nombre de faits. Si 3 cas semblent rentrer dans la loi de Widal, une péricardite tuberculeuse avec lymphocytose nette (Rendu), une péricardite brightique fort riche en cellules endothéliales (Dopter et Tanton), une péricardite tuberculeuse accompagnée de lymphocytose (Weill), MM. Barjon et Cade apportent une observation contradictoire : dans un cas de tuberculose des séreuses avec épanchement dans les deux plèvres et le péricarde, le liquide pleural contenait seulement 6 % de polynucléaires et le liquide péricardique 97 %. Or aucune poussée récente, aucune complication ne permettait d'expliquer cette découverte paradoxale. La cytologie des épanchements péricardiques a donc encore besoin de nouvelles recherches.

Il en est de même pour la **séreuse péritonéale** : on ne possède qu'un certain nombre de faits disparates, assez difficiles à comparer entre eux.

Cependant Tuffier et Milian, Dopter et Tanton, Achard et Loeper signalent la lymphocytose dans l'exsudat des péritonites tuberculeuses ; Dopter et Tanton voient une prédominance des polynucléaires dans une ascite cirrhotique, affection où Souques d'une part, Achard et Laubry, de l'autre, rencontrent, chacun dans un cas, de la lymphocytose. Achard et Loeper font des placards endothéliaux l'apanage des péritonites chroniques dues à des néoplasmes abdominaux bénins ou malins (kystes, corps fibreux, cancers).

Les observations de MM. Barjon et Cade sont assez peu conformes aux formules cytologiques pleurales. Elles peuvent se diviser en 3 catégories :

1° *Ascites mécaniques* (cardiaques, brightiques, cirrhotiques). Dans tous ces cas, sauf une exception, se constate une prédominance nette des cellules endothéliales, environ de 60 à 80 %.

2° *Ascites symptomatiques de tuberculose péritonéale*. Les formules sont disparates ; la prédominance appartient tantôt aux polynucléaires, tantôt aux lymphocytes, tantôt aux cellules endothéliales.

3° *Ascites survenues à l'occasion d'un cancer viscéral ou primitivement péritonéal* : là encore la formule varie dans des conditions difficiles à analyser, sauf le cas d'infection du péritoine par un cancer ulcéré, cas où prédominent les polynucléaires.

En résumé la cytologie n'a pas réalisé toutes les espérances conçues par les premiers qui s'en sont occupés.

Les épanchements pleuraux obéissent à des règles d'une certaine fixité, connues pour la plupart et l'étude cytologique des pleurésies rend au diagnostic de réels services ; la méthode a droit d'occuper une place importante parmi tous les procédés de laboratoire dont se complète maintenant un examen clinique.

L'étiologie et la pathogénie de l'hydrocèle s'éclairent aussi à la lumière du cyto-diagnostic ; de précieuses indications thérapeutiques peuvent être ainsi posées.

Quant aux résultats de la cytologie des épanchements sous-arachnoïdiens, péricardiques, articulaires et péritonéaux, ils sont encore trop incomplets, trop incertains et contradictoires pour ne pas justifier le septicisme de nombreux cliniciens.

Nous sommes peut-être sur la voie d'une méthode féconde, mais cette conquête scientifique est loin d'être encore effectuée ; loin de la préparer d'ailleurs, une trop hâtive généralisation ne peut que fausser la route et jeter sur la cytologie un discrédit immérité.

CHAPITRE IV

Variations des formules au cours de l'évolution de la maladie

Nous venons de suivre le cytologiste dans la série des manipulations et des raisonnements qui lui permettent, étant donné un épanchement pathologique, d'en posséder sous son microscope la formule cellulaire et d'y attacher une interprétation clinique.

Nombreuses sont les occasions où l'expérimentateur a peine à se mettre à l'abri de l'erreur ; plus nombreux encore les cas où plusieurs interprétations d'un même fait s'offrent à l'esprit. Trouverons-nous cependant en ces seules constatations l'explication de toutes les inexactitudes, de toutes les divergences d'opinion ?

Eh bien, non : une technique identique en tous ses détails fût-elle suivie dans tous les laboratoires, les éléments cellulaires répartis rigoureusement en leurs catégories propres, les formules interprétées avec toute leur valeur diagnostique, un épanchement de même nature

présenterait encore une formule cytologique inconstante.

Car le cyto-examen varie durant l'évolution de la maladie qui a provoqué l'épanchement analysé.

I. — *Influence du début.* — Dans la pleurésie tuberculeuse, affection dont la lymphocytose semble déceler la nature presque sans défaillances, on peut trouver à certain moment — au début — des polynucléaires en proportion notable, prépondérante quelquefois.

Voici quelques exemples de cette polynucléose initiale, choisis dans une série de pleurésies sûrement tuberculeuses (Barjon et Cade : Contribution à l'étude des pleurésies tuberculeuses; *Arch. génér. de médecine*, août 1902).

Numéro de l'observation	Temps écoulé entre le début et l'examen	FORMULES (sur 100 éléments)
IX	5 ^e jour	23 polynucléaires; mononucléaires 4,6; lymphocytes 11,5; cellules endothéliales 60,9.
XVII	3 ^e jour	68 polynucléaires; 30 petits mononucléaires; 1 grand mononucléaire; 1 éosinophile.
VIII	12 ^e jour	16,8 polynucléaires; 74,4 lymphocytes; 4,8 grands mononucléaires; 4 cellules endothéliales.
XII	36 heures	18 polynucléaires; 82 mononucléaires.
XXV	18 ^e jour	22,5 polynucléaires; 87 lymphocytes; 8,3 mononucléaires; 4 cellules endothéliales.

Dans les deux premiers exemples, les polynucléaires sont plus nombreux que les lymphocytes; dans les trois derniers, ils sont encore en proportion notable.

Cette polynucléose relative ou absolue du début n'a pas échappé à M. Ravaut et lorsqu'il la note, il est aisé de voir que son examen a été effectué à une date rapprochée du début de l'affection.

La présence remarquable de ces polynucléaires appartient même aux pleurésies primitives et non pas seulement aux tuberculoses pleuro-pulmonaires, comme le veut M. Ravaut. Si dans les tuberculoses pleurales primitives, M. Ravaut ne s'en est pas aperçu, c'est sans doute qu'il examine le liquide de ponction moins tôt que M. Barjon et le défibrine ; cette dernière opération, nous le savons, appauvrit le liquide en polynucléaires.

Ces polynucléaires du début sont contemporains ou assez rapprochés de l'inflammation pleurale initiale : frissons, point de côté, hyperthermie. Il semble y avoir relation assez étroite entre ces symptômes d'inflammation et l'afflux des polynucléaires. « Ils sont comme les témoins de la réaction inflammatoire du début et s'éteignent avec elle. » (Barjon et Cade). (1)

La formule de la pleurésie tuberculeuse n'est donc pas aussi fixe que semble l'impliquer l'épithète de « lymphocytaire » donnée par la plupart des auteurs ; elle ne devient invariable qu'à partir de la troisième semaine.

Cette transformation de la formule histologique après le début de l'épanchement peut aussi se voir dans les pleurésies cardiaques. MM. Barjon et Cade possèdent en effet l'observation d'une femme atteinte d'insuffisance mitrale, en hyposystolie : en ces conditions un épanchement se fit dans les plèvres ; une ponction pratiquée 3 jours après (le 14 janvier 1902) donna :

Polynucléaires	55.5	°/o
Lymphocytes	11	°/o
Cellules endothéliales	35.5	°/o

(1) Nota. Wolff (*Berliner Klin. Wochens.*, fév. 1902) conclut aussi à la polynucléose du début après l'étude d'une série de pleurésies tuberculeuses.

Le 27 février 1902 (47 jours après), nouvelle ponction :

Polynucléaires	6	°/o
Lymphocytes et petits mononucléaires .	3.50	°/o
Cellules endothéliales	90.5	°/o

Dans ce cas, les polynucléaires ont disparu, mais ce sont des cellules endothéliales et non des lymphocytes, comme dans le cas précédent, qui ont pris leur place.

Empruntons un autre exemple aux résultats acquis par les travaux des laboratoires parisiens : MM. Vidal, Ravaut et Dopter (Soc. biol., 25 juillet 1902) en une étude de l'évolution dans les épanchements de la cellule endothéliale en ont rencontré au début des pleurésies septiques et des pleuro-tuberculoses primitives. Ces éléments ensuite ou bien disparaissent (par gonflement, décoloration, vacuolisation et effritement du protoplasma, fragmentation et disparition de noyau) ou bien les placards se désagrègent et les cellules isolées jouent désormais dans l'épanchement un rôle phagocytaire.

Cette influence du début de l'affection d'une séreuse sur la leucocytose de l'épanchement, ne se fait pas uniquement sentir sur la plèvre. Sicard constate, au début de la méningite cérébro-spinale, de la polynucléose ; puis quand la lutte s'éteint, que le processus morbide tend à la *restitutio ad integrum*, le liquide céphalo-rachidien ne contient plus que des lymphocytes.

II. — *Influence des poussées inflammatoires.* — Pour modifier la formule cytologique, l'inflammation peut encore intervenir au cours de la maladie.

Une observation curieuse et d'interprétation ingénieuse de M. Ch. Julliard semble prêter un appui sérieux à cette assertion : dans 4 cas d'étranglement herniaire où la bactériologie révélait un même agent d'inflammation, le coli-bacille, la cytologie du liquide épanché dans le sac herniaire donna :

1° Dans un cas d'étranglement datant de 1 jour avec intestin un peu hyperhémie, lymphocytes et cellules endothéliales en majorité (44 o/o de chacune de ces espèces d'éléments), polynucléaires en très faible quantité.

2° Etranglement de 2 jours ; l'intestin est fort hyperhémie : les lymphocytes augmentent en valeur relative (64 o/o); il y a 34 o/o de cellules endothéliales ; 2 o/o de de polynucléaires.

3° Etranglement de 3 jours, l'intestin est violacé ; les polynucléaires ont une prédominance presque absolue (99 o/o); 1 o/o de lymphocytes.

4° Etranglement de 4 jours ; l'intestin est perforé : la polynucléose est là encore presque exclusive (95 o/o).

A l'inverse du processus inflammatoire de la plupart des épanchements, processus qui va s'atténuant, l'inflammation péritonéale, dans l'étranglement herniaire, devient de plus en plus vive et se traduit par une richesse de plus en plus grande du liquide en polynucléaires.

L'influence des poussées inflammatoires est sensible aussi dans des séreuses plus communément étudiées. Voici par exemple une observation due à M. Barjon où le liquide pleurétique, riche en lymphocytes dans les moments apyrétiques, présentait de la polynucléose contemporaine d'une poussée fébrile :

OBSERVATION.

D..., Félix, Saint-Augustin, n° 55 : Pleurésie gauche datant d'un mois et demi. Grand épanchement. Schéma de Grancher n° 2 au sommet gauche.

Ponction exploratrice le 26 avril 1902. Liquide séro-fibreux. L'examen est pratiqué immédiatement : on a

Lymphocytes.....	81 %
Petits mononucléaires.....	14 %
Cellules endothéliales.....	5 %
<i>Pas de polynucléaires.</i>	

Les cellules endothéliales sont isolées mais vers l'extrémité de l'étalement on trouve de grands placards endothéliaux assez nombreux.

Le 7 mai 1902. — Depuis hier le malade a repris de la fièvre, il a ce matin 40°; une ponction exploratrice est pratiquée. Le liquide obtenu est examiné immédiatement :

Lymphocytes.....	95 %
Grands mononucléaires.....	3 %
<i>Polynucléaires.....</i>	<i>2 %</i>

Cette action des poussées fébriles sur le contenu cellulaire des épanchements pathologiques paraît donc bien établie. Cependant nous ne nous rangerons pas dans le camp des auteurs pour qui le degré d'inflammation constitue la clef du déterminisme des formules cytologiques. Nous ne dirons pas avec Ch. Julliard (*Revue de Chirurgie*, fév. 1902) que « la variété est fonction de la modalité, de l'acuité clinique de l'affection bien plus que de sa nature ». Si nous n'avions montré déjà et ne devons montrer encore le rôle effectif d'agents

tout étrangers à l'inflammation, il nous suffirait d'invoquer le fait suivant : dans les méningites tuberculeuses infantiles qui évoluent de façon suraiguë, à grand fracas, le liquide céphalo-rachidien donne souvent une formule lymphocytaire absolument nette. Il paraît donc difficile de refuser toute action à la nature du mal dans les phénomènes leucocytaires des épanchements.

III. — *Influence des injections secondaires.* — La tuberculose et la syphilis, dans la plupart des cas morbides, tendent à provoquer l'afflux des lymphocytes dans les épanchements : cependant des observations s'accumulent chaque jour, pour démontrer l'action manifeste des infections secondaires dans les modifications cytologiques de l'exsudat.

M. le médecin major Bernard, actuellement professeur agrégé au Val-de-Grâce, en publiait l'an dernier (août 1901) un exemple des plus nets. Dans un cas de méningite tuberculeuse vérifiée à l'autopsie, une ponction pratiquée 24 heures après le début des accidents méningés donna une formule conforme à la nature tuberculeuse des lésions :

Mononucléaires	164	} moyenne de 3 numérations de 200 chacune.
Polynucléaires	36	

Quatre jours après, nouvelle ponction : au microscope se constate une prédominance marquée des polynucléaires.

Mononucléaires	43	} moyenne de 5 examens.
Polynucléaires	157	

Or l'autopsie, trois jours après, montra sous l'arach-

noïde, entre les deux lobes cérébelleux, une plaque de pus jaunâtre qui contenait des polynucléaires et des microcoques mêlés à des bacilles de Koch. C'était l'intervention de ces cocci (qui au moment de la publication de l'observation n'étaient pas encore déterminés mais avaient troublé le bouillon de culture) qui avait modifié la formule lymphocytaire primitive où l'emporta désormais la polynucléose.

Ce rôle de l'intervention secondaire, semble appartenir encore à des microorganismes de même nature que les agents primitifs de l'épanchement, s'ils entrent en scène avec un autre degré de virulence, par d'autres voies ou dans d'autres conditions mal déterminées d'ailleurs. Ainsi, au cours d'une méningite tuberculeuse, la présence d'un noyau caséeux en contact avec le liquide céphalo-rachidien (cette forme anatomique se rencontre surtout chez l'adulte) entraîne souvent la polynucléose de l'épanchement (Lewkowicz). De même, les lésions pulmonaires peuvent modifier la lymphocytose des épanchements pleurétiques tuberculeux : le pus d'une caverne ouverte dans la cavité pleurale semble notamment pouvoir augmenter la proportion des polynucléaires dans l'épanchement, parfois même la rendre prédominante,

M. Ravaut signale dans sa thèse un cas d'ouverture de pneumothorax dans la cavité pleurale qui entraîna la polynucléose de l'épanchement.

Mais de ce que ces faits semblent bien établis, nous ne sommes pas autorisés à admettre une relation de causalité constante entre les phénomènes de caséification, de suppuration, de pneumothorax d'une part, la

polynucléose d'un épanchement tuberculeux d'autre part. MM. Barjon et Cade en effet ont observé un cas de pneumothorax accidentel qui ne modifia nullement la cytologie du liquide pleurétique :

OBSERVATION

D... (Rosalie), salle B. Teissier, n° 12. Pleurésie gauche séro-fibrineuse aiguë primitive à grand épanchement. Pneumothorax accidentel. Déplacement du cœur à droite.

1^{re} ponction. Thoracentèse d'urgence le 5 mai 1901, le lendemain de son entrée, 15 jours environ après le début de sa pleurésie.

La température était de 38° seulement ; liquide citrin :

Globules rouges assez nombreux.

Quelques lymphocytes.

Quelques mononucléaires.

Pas de polynucléaires.

Inoculation positive à 2 cobayes : tuberculose viscérale généralisée.

La température est remontée entre 39° et 40° ; le liquide se reproduit rapidement et nécessite des thoracentèses successives de 1 à 2 litres : les 11, 14, 19 et 25 mai, pas d'examen cytologique.

2^e ponction avec examen. A la suite d'une précédente thoracentèse il y a eu pneumothorax ; une ponction consécutive montre que la formule n'a pas varié (4 juin 1901).

Globules rouges.

Quelques lymphocytes.

Pas de polynucléaires.

Terminaison. Mort : à l'autopsie, se voient des lésions de tuberculose pleuro-pulmonaire.

IV. — *Influence des traumatismes divers.* — La modi-

- fication des formules cytologiques peut aussi dépendre d'une action purement extrinsèque, celle d'un traumatisme par exemple. Mais là encore, nous ne pouvons établir des lois absolues : l'action traumatique des ponctions exploratrices nous le prouve :

Dans une grande séreuse comme la plèvre, la ponction est manœuvre insignifiante au point de vue des variations du cyto-examen. Une première thoracentèse nous a-t-elle donné par exemple une formule lymphocytaire, les thoracentèses suivantes (si rien d'anormal ne s'est produit dans l'évolution de l'affection), nous donnent une sérosité toujours aussi riche en lymphocytes.

Tout autre sera la réaction des petites séreuses comme la vaginale et les synoviales articulaires. Ch. Julliard rapporte un cas d'hydarthrose mécanique dont une ponction, antérieure de 2 jours à celle de l'examen, expliquait la polynucléose (72 % de polynucléaires). Dans une autre observation, des applications de teinture d'iode semblent avoir causé une lymphocytose relative de l'épanchement : or il est peu vraisemblable qu'une telle médication ait une même action sur un exsudat pleural.

Aubert, dans sa thèse de doctorat, publie le cas d'une hydrocèle ponctionnée et traitée par une injection modificatrice : 8 jours après, l'épanchement se reproduit ; une nouvelle ponction révèle dans le liquide 92 % de polynucléaires.

Les fractures ne demeurent pas toujours sans action sur l'état cytologique des épanchements qu'elles peuvent provoquer dans le voisinage de leurs foyers. Ainsi

MM. Rendu et Géraudel signalent un cas de fracture du crâne sans symptômes objectifs où le cyto-diagnostic du liquide céphalo-rachidien révéla une prolifération abondante de lymphocytes à petits noyaux. Le liquide retiré par ponction n'était pas rouge et l'on ne peut expliquer la provenance de ces cellules (en un milieu qui normalement en est dépourvu) par un épanchement sanguin dans la cavité sous-arachnoïdienne. De son côté, M. Breton (de Dijon), a été témoin d'une mononucléose abondante du liquide céphalo-rachidien sans globules rouges provoquée chez un garçon robuste par une insolation.

C'est probablement encore la différence des traumatismes qui donne la clef de cette dissemblance des réactions leucocytaires dans des infections de même nature expérimentalement réalisées par MM. Widal et Ravaut. Ces auteurs tuent un cobaye par tuberculose généralisée ou intoxication diphtérique à la suite d'inoculations faites dans le tissu cellulaire sous-cutané ou dans la séreuse péritonéale : le liquide épanché entre les feuillets pleuraux présente une formule cytologique où règne la lymphocytose. Mais, si les bacilles de Koch ont été directement inoculés dans la plèvre, l'épanchement renferme des polynucléaires à côté des lymphocytes.

Les agents chimiques ont sur la cytologie des épanchements morbides une action indiscutable bien que peu rigoureusement analysée encore. Les résultats des injections de cocaïne dans le rachis donnent un appui intéressant à cette assertion.

Examinant le liquide céphalo-rachidien quelques heures après la rachicocaïnisation, MM. Ravaut et Aubourg

(*Soc. biol.* 15 juin 1901), ont trouvé 20 fois sur 21 un liquide trouble, très riche en polynucléaires, d'autant plus riche que la céphalée était plus intense. Dans 1 cas, le liquide a été trouvé normal. Au bout de 3 ou 4 jours, le liquide est devenu plus clair, les polynucléaires ont diminué et ont été remplacés par des lymphocytes et des mononucléaires ; après une période variant de 8 à 20 jours la lymphocytose a disparu et le liquide est redevenu normal.

MM. Stassano et Billon (*Soc. biol.*, 21 février 1902), dans une voie analogue, ont poursuivi une série d'expériences sur la leucocytose produite dans le péritoine par des injections de lécithine. Les cobayes soumis à l'expérience sont répartis en deux lots : les premiers reçoivent dans le péritoine une certaine dose d'émulsion de lécithine ; aux seconds, animaux témoins, sont injectées des doses égales de solution physiologique. L'analyse microscopique de la sérosité épanchée dans le péritoine des cobayes du premier et du second groupe est fort instructive. L'afflux des leucocytes, qui sont surtout des grands mononucléaires et des polynucléaires, est bien plus considérable chez les premiers cobayes. De plus, les mononucléaires atteignent en 5 ou 6 heures des dimensions plus grandes que ne les présentent en 24 heures les mononucléaires des cobayes témoins.

Enfin, la phase d'englobement des polynucléaires par les mononucléaires se produit et s'achève avec une avance considérable des animaux soumis à l'injection de lécithine.

Un traumatisme chimique peut donc remplir un triple rôle dans les épanchements pathologiques :

1° Modifier la proposition brute des leucocytes ;

2° Favoriser l'afflux prépondérant de telle ou telle catégorie de ces éléments (les polynucléaires dans la rachicocainisation).

3° Enfin, modifier la proportion quantitative des différentes espèces de cellules en favorisant pour les unes la destruction des autres par phagocytose.

CONCLUSIONS

I. — L'examen systématique des éléments cellulaires contenus dans les épanchements morbides constitue une méthode d'investigation importante qui a reçu le nom de *cyto-diagnostic* (Widal) et qui mériterait mieux celui de *cyto-examen*.

II. — La valeur de cette méthode est basée sur la détermination d'un certain nombre de formules fixes qui indiqueraient la nature du processus.

III. — A côté de ces formules fixes et pour ainsi dire schématiques, viennent prendre place toute une série de formules intermédiaires dont l'interprétation constitue pour le clinicien toute la difficulté et tout le danger de la méthode.

IV. — Ce travail a eu pour but de mettre en garde le cytologiste contre les nombreuses causes d'erreur qui peuvent venir faire dévier cette interprétation.

V. — Ces causes d'erreur relèvent pour une faible

part des diverses manipulations techniques mais surtout des affirmations trop hâtives, des généralisations téméraires d'une sérieuse à l'autre et enfin des modifications toujours possibles dans la formule cytologique d'un liquide au cours d'une détermination quelconque dans une même sérieuse.

Le Président de la Thèse,

BONDET

VU :

Pr le Doyen de la Faculté,

L'Assesseur,

LACASSAGNE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 29 novembre 1902.

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université,

GABRIEL COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE

ACHARD, LœPER et LAUBRY. — Le liquide céphalo-rachidien dans le zona. *Soc. méd. hôp. Paris*, 26 juillet 1901.

AUBERT. — Thèse de Lyon, 1902 (en cours d'impression).

BARÈGE. — Thèse de Lyon, 1902 (en cours d'impression).

BARJON et CADE. — Examen cytologique des épanchements pleuraux. *Lyon médical*, 11 août 1901.

— Formule cytologique spéciale des pleurésies par infarctus chez les cardiaques. *Soc. biol.*, 22 juin 1901.

— Liquide céphalo-rachidien et méningite chronique dans un cas de maladie de Friedreich. *Soc. biol.*, 2 mars 1901.

— Contribution à l'étude cytologique des pleurésies tuberculeuses. *Arch. génér. de médecine*, août 1902.

— Contribution à l'étude cytologique des épanchements pleuraux des brightiques et des cardiaques. *Arch. génér. de médecine*, octobre 1902.

— Cytologie des hydrocèles. Présence des spermatozoïdes dans les hydrocèles essentielles. Pathogénie de ces hydrocèles. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 6 juin 1902.

Sur l'interprétation de la formule cytologique des

- épanchements dans les séreuses, d'après plus de 100 examens. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 7 mars 1902.
- Note sur la cytologie du liquide céphalo-rachidien dans les méningites tuberculeuses. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 23 mai 1902.
- BERNARD. — Variations de la formule leucocytaire dans le cyto-diagnostic d'une méningite. *Lyon médical*, 19 mai 1901.
- BRETON (de Dijon). — Cyto-diagnostic. *Gazette des hôpitaux*, 29 août 1901.
- J. COURMONT et MONTAGARD. — Sur la cytologie des méningites. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 23 mai 1902.
- A. DESCOS. — Applications cliniques du cyto-diagnostic des épanchements des séreuses. *Revue de médecine*, 10 septembre et 10 octobre 1902.
- DEVAUX et DUPRÉ. — Cyto-diagnostic du liquide céphalo-rachidien dans les maladies mentales. *Soc. méd. hôp. Paris*, 7 juin 1901.
- DEVIC et CHATIN. — De la forme pleurale du cancer de l'estomac. Valeur diagnostique de l'examen des épanchements. *Province médicale*, 1894.
- DIEULAFOY. — Clinique médicale. *Semaine médicale*, 20 novembre 1901.
- DOPTER et TANTON. — Examen cytologique des épanchements de diverses séreuses. *Soc. méd. hôp. Paris*, 12 juillet 1901.
- DUFOUR. — Cytologie du liquide céphalo-rachidien dans la méningite chronique alcoolique. *Soc. méd. hôp. Paris*, 11 octobre 1901.
- EHRlich. — Zur diagnostik der carcinomatosen Pleuritis. *Charité Annalen*, 1880.

- V. GRIFFON. — Cyto-diagnostic des méningites. *Soc. biol.*, 5 janvier 1901.
- Ch. JULLIARD. — De l'utilisation clinique de la cytologie, la cryoscopie et l'hématolyse dans les épanchements de quelques séreuses chirurgicales. *Revue de chirurgie*. février 1902.
- LE DAMANY (Pierre). — Recherches sur les pleurésies séro-fibrineuses primitives et secondaires : bactériologie, nature, pathogénie. Thèse, Paris, 1897.
- LEWKOWICZ. — Etiologie des méningites et valeur diagnostique de la ponction lombaire. *Przegląd Lekarski*, 1900.
- MARCOU-MUTZNER. — Cyto-diagnostic et méningite tuberculeuse. *Arch. génér. de médecine*, 1901, p. 345.
- MOLLARD et ANDRÉ. — Sur un cas de méningite tuberculeuse à début spinal et de durée prolongée. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 23 mai 1902.
- NAGEOTTE et JAMET. — Cyto-diagnostic du liquide céphalo-rachidien dans 45 cas d'affections nerveuses et mentales. *Soc. méd. hôp. Paris*, 23 janvier 1902.
- PLISSON. — Thèse de Lyon, 1902 (en cours d'impression).
- QUINCKE. — Ueber die geformten Bestandtheile von Transsudaten. *Arch. f. Kl. med.*, 1882.
- RAVAUT. — Le diagnostic de la nature des épanchements séro-fibrineux de la plèvre. Cytodiagnostic. Thèse, Paris. 1901.
- RAVAUT et AUBOURG. — Le liquide céphalo-rachidien après la rachicocainisation. *Soc. biol.*, 15 juin 1901.
- REGAUD. — Sur l'ascite cancéreuse. Congrès français de médecine, Lyon, 1894, p. 629.

- RENDU. — Péricardite tuberculeuse à grand épanchement. *Soc. méd. hôp. Paris*, 22 mars 1901.
- RENDU et GÉRAUDEL. — A propos du cyto-diagnostic dans les méningites; fracture du crâne méconnue pendant la vie. *Soc. méd. hôp. Paris*, 5 juillet 1901.
- SÉGLAS et NAGEOTTE. — Cyto-diagnostic du liquide céphalo-rachidien dans les maladies mentales. *Soc. méd. hôp. Paris*, 7 juin 1901.
- SICARD. — De la forme ambulatoire des méningites bactériennes. Cyto-diagnostic du liquide céphalo-rachidien. *Presse médic.*, 21 août 1901.
- STASSANO et BILLON. — Sur la leucocytose produite dans le péritoine par les injections de lécithine. *Soc. biol.*, 21 février 1902.
- TRIBOULET et LIPPMANN. — Polyomyélite antérieure aiguë. Ponction lombaire, mononucléose. *Soc. méd. hôp. Paris*, 23 janvier 1902.
- TUFFIER et MILIAN. — Cyto-diagnostic de la péritonite tuberculeuse et du kyste de l'ovaire. *Soc. biol.* 27 avril 1901.
- WEILL et DESCOS. — Cytologie et séro-diagnostic tuberculeux. *Soc. méd. hôp. Lyon*, 14 mars 1902.
- WERIGO. — Les globules blancs comme protecteurs du sang. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892, p. 478.
- WIDAL et RAVAUT. — Applications cliniques de l'étude histologique des épanchements séro-fibrineux de la plèvre. *Soc. biol.*, 30 juin 1900.
- Recherches histologiques sur le liquide des pleurésies expérimentales. *Soc. biol.*, 22 décembre 1900.
 - Recherches histologiques sur le liquide des hydrocèles. *Soc. biol.*, 22 décembre 1900.

WIDAL, RAVAUT et DOPTER. — Sur l'évolution et le rôle phagocytaire de la cellule endothéliale dans les épanchements des séreuses. *Soc. biol.*, 25 juillet 1902.

WIDAL, SICARD et RAVAUT. — Cyto-diagnostic de la méningite tuberculeuse, Recherches expérimentales et conclusions générales. *Soc. biol.*, 13 octobre 1901.

WIRCHOW. — *Pathologie cellulaire*. Traduction Picard, 1861, p. 335.

WOLFF. — *Berliner Klin. Wochens*, février 1902.

